Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Bedeutung verschiedener Substrate für den Ablauf des Erregungsstoffwechsels am Speicheldrüsengewebe.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des

Medizinischen Doktorgrades

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin.

Vorgelegt von

Wolfgang Loch,

approbiertem Arzt aus Berlin.

Tag der Promotion: 19. Dezember 1939.

Buchdruckerei K. Hammer, Berlin O 112, Frankfurter Allee 307

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Kreuz

Referent: Prof. Dr. Heubner

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550804_0157

1.

Der Stoffwechsel von Gewebsschnitten der Speicheldrüse zeigt bei der Untersuchung nach der Methode von *Warburg* (1) in der üblichen *Ringer-Locke* Lösung mit 200 mg % Glukose einen gleichmäßigen Ablauf. Der Sauerstoffverbrauch für das Milligramm Gewebe (Trockensubstanz) beträgt in der Stunde etwa 8 ($Q_{O_2} = 8$). Die CO_2 Bildung ist etwas geringer, meist liegt der respiratorische Quotient um 0,9. Wird den Gewebsschnitten der Speicheldrüse im Stoffwechselversuch Acetylcholin zugesetzt, also der Stoff, der physiologisch eine „Erregung" in diesem Organ auslöst, so zeigt der Stoffwechsel eine etwa 30 Minuten dauernde charakteristische Reaktion, die hier kurz als „Erregungsstoffwechsel" bezeichnet werden soll. Die Atmung steigt um mehrere 100 % an und gleichzeitig nimmt die CO_2 Bildung in noch größerem Umfang zu, so daß sie die Sauerstoffaufnahme beträchtlich übersteigt (2). Da der respiratorische Quotient bei reiner Kohlenhydratverbrennung maximal 1 betragen kann, kann der Ueberschuß der CO_2 Bildung über den Sauerstoffverbrauch nur so bedingt sein, daß bei der Erregung Säuren gebildet werden („fixe" Säuren, z. B. Milchsäure), die aus der Ringerlösung zusätzlich CO_2 ausgetrieben haben („Extrakohlensäure"). Diese Säurebildung ist im Ruhestoffwechsel unter normalen Bedingungen niemals zu beobachten, sondern stellt eine Besonderheit des Erregungsstoffwechsels dar, der also nicht in einer einfachen Stoffwechselsteigerung besteht, vielmehr auch qualitativ vom Ruhestoffwechsel verschieden ist.

Diese Vorgänge sind von *Druckrey* und Mitarbeitern (2,3) in einer Reihe von Arbeiten genauer untersucht worden. Dabei wurde festgestellt, daß das Speicheldrüsengewebe auch in substratfreier Lösung einen kräftigen Atmungsstoffwechsel über viele Stunden haben kann, daß aber der Erregungsstoffwechsel gestört ist. In zuckerfreier Ringerlösung blieb nämlich die Säurebildung nach Acetylcholinzusatz aus, es trat lediglich eine Atmungssteigerung ein. Hieraus wurde geschlossen, daß das Speicheldrüsengewebe in der Lage ist, den Zucker der Ringerlösung anzugreifen. Dies umsomehr, als sich zeigte, daß die Auslösung eines Erregungsstoffwechsels bei Speicheldrüsenschnitten in zuckerhaltiger Lösung durch erneuten Acetylcholinzusatz garadezu beliebig oft wiederholt werden kann, in substratfreier Lösung dagegen meist nur einmal, selten zweimal. Jeder weitere Zusatz blieb dann ohne Erfolg. Das kann nur so zu verstehen sein, daß das Gewebe für den Erregungsstoffwechsel auf das Vorhandensein eines besonders geeigneten, angreifbaren Substrates angewiesen ist, weil es selbst nur geringe, leicht disponible Substratreserven enthält, die nur noch für eine, höchstens zwei Erregungen ausreichen und dabei erschöpft werden. Es ist bekannt, daß die Speichel-

drüse wenig Glykogen enthält. Das disponible Substrat kann jedoch durch die mehrfache Erregung in substratfreier Lösung nicht vollständig erschöpft sein, denn der Ruhestoffwechsel des Gewebes verläuft auch nach der wiederholten Acetylcholingabe noch anscheinend völlig ungestört weiter, lediglich die Erregbarkeit ist aufgehoben. Es muß also noch Substrat zur Verfügung stehen, das nur den Ruhestoffwechsel bestreiten kann, aber für den Erregungsstoffwechsel qualitativ oder quantitativ nicht ausreicht (3). Hier setzen meine Versuche ein.

2.

Methode: Der Gewebsstoffwechsel der Speicheldrüse wurde mit der sogenannten „indirekten" manometrischen Methode von *Warburg* (1,2) gemessen. Bei dieser Methode wird der Sauerstoffverbrauch und die CO_2 Bildung auf Grund der verschiedenen Löslichkeit beider Gase in wässrigen Flüssigkeiten *gleichzeitig* bestimmt. Dies geschieht so, daß zwei Ansätze mit gleichen Gewebsmengen aber verschiedenen Flüssigkeitsmengen nebeneinander untersucht werden. Aus der Differenz der Manometerwerte wird die Sauerstoffaufnahme und CO_2 Bildung berechnet. Als Suspensionsflüssigkeit diente Ringer-Locke Lösung, die aus 96 Teilen einer 0,155 mol NaCl Lösung, je zwei Teilen einer 0,155 mol KCl bzw. einer 0,11 mol $CaCl_2$ Lösung und 20 Teilen einer 0,155 mol $NaHCO_3$ Lösung zusammengestellt wurde. Der Substratsgehalt ist in den einzelnen Versuchen angegeben. Zu seiner Berechnung wurde von isotonischen Substratslösungen ausgegangen. Der Gasraum enthielt 95% O_2 und 5% CO_2 Als Versuchsgefäße dienten kastenförmige Vorlagen mit zwei birnenförmigen Ansätzen, aus denen während des Versuches Zusätze in den Hauptraum des Gefäßes übergekippt werden konnten. Zur Untersuchung kamen Gewebsschnitte der Glandula submaxillaris der Katze, die aus den frisch entnommenen Drüsen mit besonders geschärften, einseitig plangeschliffenen Rasiermessern mit der Hand hergestellt wurden. Die Schnittdicke betrug ungefähr 200 µ. Die Tiere wurden ohne Narkose durch Nackenschuß getötet.

Der Stoffwechsel wurde bei 37,5° gemessen. Die Ablesung der Barometer erfolgte alle 10 Minuten. Aus den Werten jeder Ablösung wurden die Stoffwechselwerte nach der von *Warburg* (1) angegebenen Formel ausgerechnet und in ein Koordinatensystem eingetragen. Die so entstehenden Kurven geben ein gutes Bild vom Ablauf des Stoffwechsels. Auf der Ordinate sind die Stoffwechselquotienten (Q = cmm Gas pro mg trocknes Gewebe und Stunde) aufgetragen, auf der Abszisse die Zeit in Minuten. Die Kurve des Sauerstoffverbrauchs (Q_{O_2}) ist in den Abbildungen durchgezogen, die der Gesamt-CO_2 Bildung ist gestrichelt. Das schraffierte Feld bezeichnet den Ueberschuß der CO_2 Bildung über die Atmung („Extrakohlensäure"), also die aerobe „Glykolyse" bzw. „Glykogenolyse".

Das Acetylcholin gebrauchte ich als Chlorid der Firma Hoffmann-la Roche. Für jeden Versuchstag wurde eine neue Ampulle benutzt. Die Lösung erfolgte in bikarbonatfreier Ringerlösung, da das Acetylcholin im alkalischen Milieu schnell verseift wird. Die in den Kurven angegebenen Konzentrationen sind stets Endkonzentrationen, und zwar berechnet auf die wirksame Substanz und nicht auf die Salze. Lactat, Pyruvat und Succinat wurden als Natriumsalz zugegeben.

3.

Um die Bedeutung des Subtrates festzustellen, untersuchte ich zunächst die Frage, wieviel Glukose in der Ringerlösung enthalten sein muß, um bei mehrfachen Acetylcholingaben wiederholte Stoffwechselsteigerungen mit Säurebildung zu ermöglichen. In allen Fällen wurde zweimal Acetylcholin ($5 \cdot 10 - 7$) im Abstand von einer halben bis einer Stunde zugegeben. In der Abb. 1 sind einige Ergebnisse solcher Versuche wiedergegeben, und zwar mit 200, 80, 20 und 10 mg% Glukose. Sie zeigen, daß die Höhe der Atmungssteigerung bei der Erregung bei 80 mg% Glukose deutlich größer ist als bei 10 oder 20, aber auch als bei 200 mg%. Dies stets reproduzierbare Ergebnis ist besonders deshalb von Interesse, weil das beobachtete Optimum der physiologischen Glukosekonzentration im Blut entspricht. Den hemmenden Einfluß der Glukose auf eine erhöhte Atmung haben *Brock, Druckrey* und *Herken* (3) am gleichen Objekt zeigen können. Auch in meinen weiteren Versuchen konnte ich diese Erscheinung mehrfach beobachten (s. u.). Ferner zeigten diese Versuche, daß die Größe der Säurebildung (schraffiertes Feld) mit steigender Glukosekonzentration bis zu dem von *Warburg* (1) ermittelten Optimum von 200 mg% zunimmt. Bei 20 mg% ist eine gerade noch meßbare Säurebildung aufgetreten, bei 10 mg% nicht mehr.

4.

Für das Auftreten einer aeroben Säurebildung ist also nicht allein das Vorhandensein von spaltbarem Kohlenhydrat Voraussetzung, sondern es muß auch in einer genügenden Konzentration zur Verfügung stehen. Damit wäre verständlich, daß in substratfreier Lösung durch Acetylcholin nur noch eine Atmungssteigerung ohne Säurebildung ausgelöst werden kann; denn die an sich vielleicht noch vorhandenen Glykogenreserven reichen wahrscheinlich *quantitativ* für eine Säurebildung nicht mehr aus, sondern vermögen nur noch als Substrat für eine Atmungssteigerung zu dienen. Da die Atmungssteigerung durch Acetylcholin in substratfreier Lösung stets nur noch einmal ausgelöst werden kann, muß angenommen werden, daß bei der Erregung Glykogenreserven verbraucht werden. Obwohl das Gewebe nun gegen eine

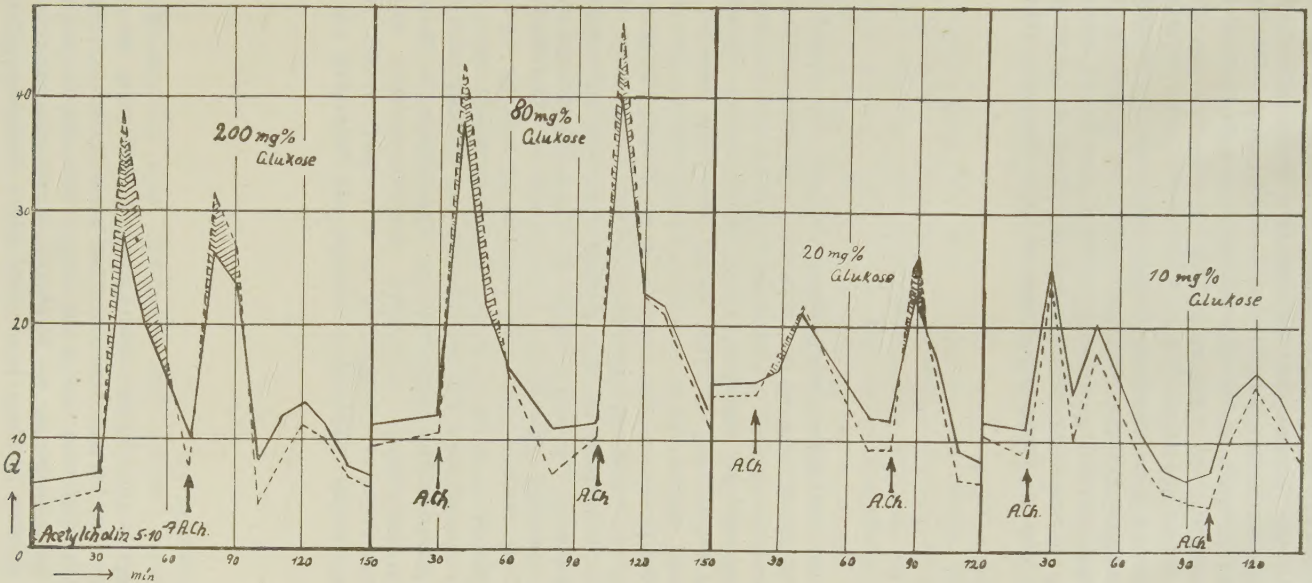

Abb. 1 Wirkung von Acetylcholin auf den Gasstoffwechsel von Gewebsschnitten der Speicheldrüse. — Einfluß des Zuckergehaltes in der Suspensionsflüssigkeit auf den Ablauf des Erregungsstoffwechsels. Durchgezogene Linie O_2 Verbrauch, gestrichelte Linie Gesamt-CO_2 Bildung, schraffiertes Feld „aerobe Extrakohlensäurebildung". Darstellung von 4 Versuchen.

neue Erregung refraktär ist, weil das für den Erregungsstoffwechsel notwendige Substrat erschöpft wurde, verläuft sein Ruhestoffwechsel in der alten Höhe weiter. Das spricht dafür, daß jetzt ein Substrat verbraucht wird, welches *qualitativ* für den Erregungsstoffwechsel nicht geeignet ist, sondern nur noch den Ruhestoffwechsel bestreiten kann. Damit taucht wieder die Frage auf, ob im Erregungsstoffwechsel überhaupt ein anderes Substrat gebraucht wird als im Ruhestoffwechsel.

Die Frage habe ich experimentell zu klären versucht. Wenn das für den Erregungsstoffwechsel notwendige Substrat auch im Ruhestoffwechsel angegriffen würde, müßte die geringe Substratreserve des Speicheldrüsengewebes bei stundenlangem Ruhestoffwechsel in substratfreier Lösung allmählich erschöpft werden, so daß dann auf Acetylcholin keine Wirkung mehr eintreten kann,

Mehrere Ansätze Speicheldrüsengewebe wurden in zuckerfreier Lösung gründlich gespült und anschließend in zuckerfreier Lösung untersucht. Erst mehrere Stunden nach Versuchsbeginn wurde dann Acetylcholin zugegeben ($5 \cdot 10^{-7}$). In allen Fällen ließ sich ein kräftiger Atmungsanstieg um 100 bis 200% auslösen, und zwar *unabhängig davon,* ob das Gewebe wenige Minuten oder mehrere Stunden lang vorher in substratfreier Lösung geatmet hatte (Abb. 2). Das Gewebe hat also das für die Atmungssteigerung bei der Erregung notwendige Substrat im Ruhestoffwechsel auch in 10 Stunden nicht verbraucht, sondern für die Erregung „reserviert". Nach Abklingen der Erregung war dann keine Atmungssteigerung mehr durch erneute Acetylcholingabe auszulösen. Da die Erregbarkeit aber allein durch Zugabe von Glukose wiederhergestellt werden kann (3), muß das Refraktärwerden des Gewebes auf Substratmangel bezogen werden. Das für den Erregungsstoffwechsel notwendige Substrat ist also bei der Erregung verbraucht worden, im Ruhestoffwechsel dagegen nicht. Nach diesem Ergebnis hat es den Anschein, daß der Erregungsstoffwechsel vom Ruhestoffwechsel auch insofern qualitativ verschieden ist, als er ein anderes Substrat gebraucht. Ich bin deshalb der Bedeutung verschiedener Substrate nachgegangen.

5.

Im substratfreien Medium tritt auf Acetylcholinzusatz nur noch eine Atmungssteigerung, aber keine Säurebildung mehr auf, wie oben erwähnt wurde. Dies könnte nach meinen Ergebnissen dadurch bedingt sein, daß das Gewebe nicht genügend *spaltbares* Kohlenhydrat, wohl aber noch oxydables Substrat enthält. Als solches kommen vor allem Lactat, Pyruvat und Succinat in Frage.

Wird dem Gewebe einer dieser Stoffe als Substrat anstelle von Glukose angeboten, so beständen für die Verwertung zwei Möglichkeiten. Entweder wird das Substrat als solches oxydiert, oder es wird zunächst zur Glykogensynthese benutzt. Wenn der zweite Fall zutrifft, aus dem Substrat also ein

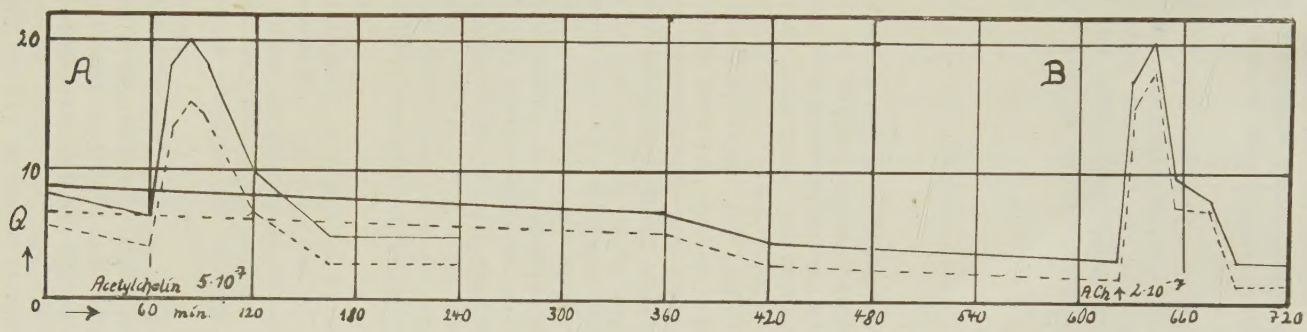

Abb. 2 (Bezeichnung wie Abb. 1). In Ringer-Lockelösung **ohne** Substrat bewirkt Acetylcholin nur einen **Anstieg der Atmung und keine** „aerobe Säurebildung". Diese Wirkung läßt sich nach 10 Stunden Stoffwechselablauf in substratfreier Lösung (B) noch genau so auslösen, wie zu Beginn des Versuches (A). **Das für die Atmungssteigerung bei der Erregung notwendige Substrat wird also im „Ruhestoffwechsel" nicht erschöpft.**

spaltbares Kohlenhydrat aufgebaut wird, so muß durch eine — nach einiger Zeit — folgende Erregung durch Acetylcholin wieder eine Säurebildung auslösbar sein. Ist dies dagegen nicht möglich, so wäre eine direkte Oxydation der Säuren anzunehmen.

Um diese Frage zu entscheiden, wurde Speicheldrüsengewebe in substratfreier Lösung eine zeitlang untersucht, dann Lactat aus einer Anhangsbirne in den Versuchsraum zugegeben (Endkonzentration 100 mg%) und nach 90 Minuten — um dem Gewebe genügend Zeit zur Glykogensynthese zu lassen — Acetylcholin aus einer zweiten Anhangsbirne zugefügt. (Der Lactatzusatz verursachte in den meisten Fällen einen Atmungsanstieg von 50 bis höchstens 100%, der bald abklang.) Auf die Applikation des Acetylcholins trat dann prompt ein starker Atmungsanstieg um mehrere 100% auf, aber keine Säurebildung, vielmehr lag der respiratorische Quotient bemerkenswert niedrig, wie es der leichten Dehydrierbarkeit des Lactats entspricht (Abb. 3). Dies stets reproduzierbare Ergebnis stimmt mit analogen Versuchen am gleichen Objekt von *Deutsch* und *Raper* (4) überein und scheint darauf hinzudeuten,

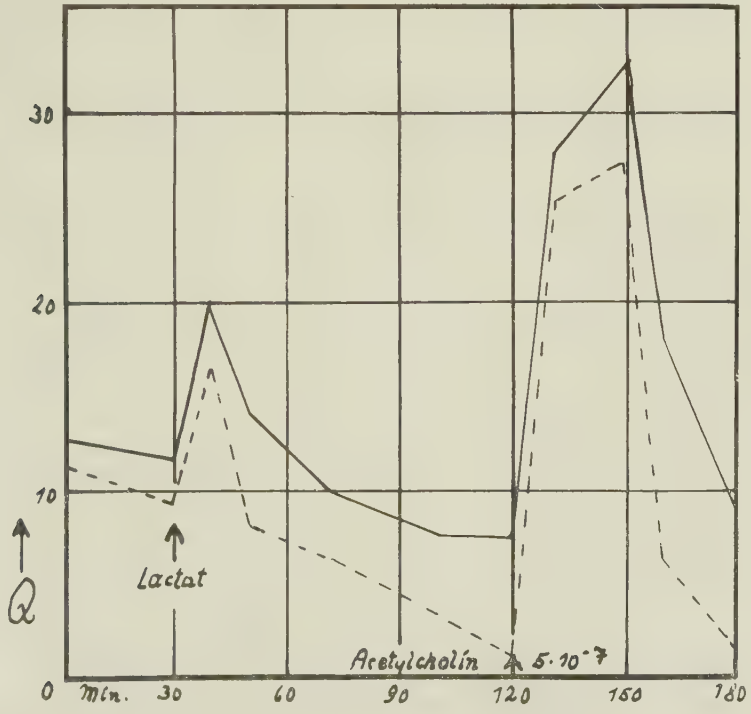

Abb. 3 (Bezeichnung wie Abb. 1,) Ringerlösung ohne Substrat. Nach Zusatz von 100 mg% Lactat erfolgt ein kurzer Stoffwechselanstieg und Absinken des respiratorischen Quotienten. Acetylcholin löst nun eine kräftige Atmungssteigerung aber keine aerobe Säurebildung aus.

daß das Lactat als solches dehydriert und nicht erst zur Synthese von spaltbarem Kohlenhydrat benutzt wird. Indessen erlaubt dieser zuerst von *Deutsch* und *Raper* angestellte Versuch eigentlich nicht den sicheren Schluß, daß das Lactat überhaupt angegriffen wird, denn in völlig substratfreier Lösung tritt auf Acetylcholinzusatz, wie oben gezeigt wurde, eine ganz entsprechende allerdings geringere Atmungssteigerung auf. Aus diesem Grunde waren weitere Versuche erforderlich.

Wenn Lactat tatsächlich als Substrat für den Erregungsstoffwechsel dienen kann, dann müßte es möglich sein, in einer Ringerlösung, die Lactat anstelle von Glukose enthält, nicht nur einmal, sondern *mehrfach* eine kräftige Atmungssteigerung mit Acetylcholin auszulösen, was in substratfreier Lösung nicht möglich ist. Erst damit wäre die Ausnützung des Lactats für den Erregungsstoffwechsel erwiesen. Aus diesem Grunde wurde Speicheldrüsengewebe in einer zuckerfreien Ringerlösung 100 mg% Lactat untersucht und mehrfach die übliche Acetylcholinkonzentration zugegeben. Das Resultat ist eindeutig und in mehrfacher Hinsicht bemerkenswert (Abb. 4). Zunächst zeigt es klar, daß das Lactat als Substrat dienen kann, denn durch wieder-

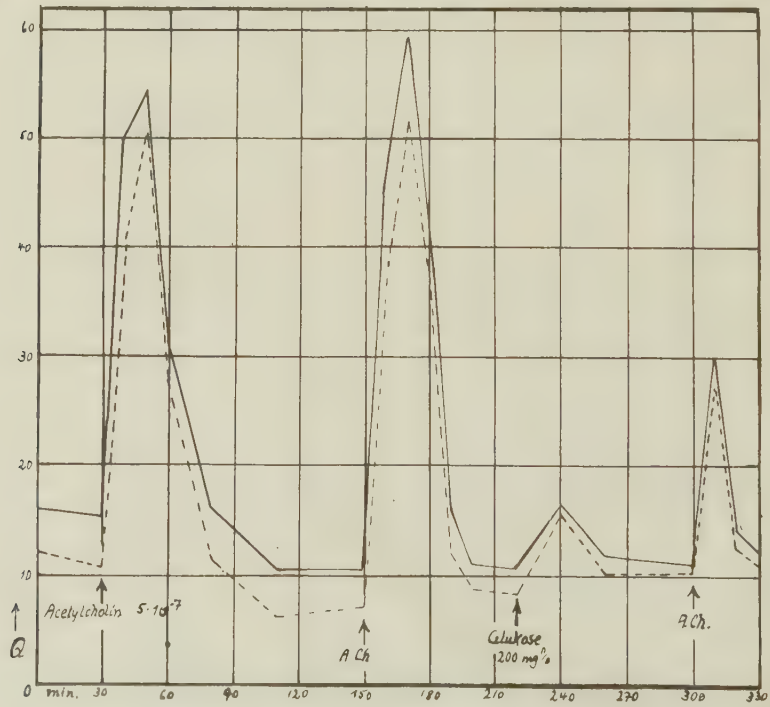

Abb. 4 (Bezeichnung wie Abb. 1.) Ringer-Lockelösung mit 100 mg% Natriumlactat ohne Glukose. Zweimaliger Zusatz von Acetylcholin bewirkt jedesmal eine **sehr starke** Atmungssteigerung, aber keine Säurebildung. Auch nach späterem Zusatz von Glukose in einer für die Glykolyse optimalen Konzentration bewirkt Acetylcholin keine Säurebildung, sondern nur eine Atmungssteigerung, die nun wesentlich geringer ist, als vor dem Zusatz der Glukose.

holten Acetylcholinzusatz ließ sich stets wieder eine sehr kräftige Atmungssteigerung auslösen. Zum anderen fiel auf, daß bei Anwendung von Lactat als Substrat bei der Erregung keine aerobe Säurebildung auftrat, wie es in den Versuchen mit Glukose stets der Fall war. Das spricht dafür, daß das Lactat nicht erst zur Synthese von spaltbarem Kohlenhydrat benutzt wird, sondern einer Dehydrierung unterliegt. Darauf deutet auch der von Anfang an recht niedrige respiratorische Quotient hin. Besonders beachtenswert scheint mir, daß die Atmungssteigerung in lactathaltiger Lösung ungewöhnlich hoch ist. Sie erreicht nicht nur, wie bei Versuchen in Ringerlösung mit Zucker als Substrat ein Q_{O_2} von etwa 30, sondern von 50 und häufig 70! Alle diese Besonderheiten des Erregungsstoffwechsels in lactathaltiger Lösung waren stets reproduzierbar.

Noch klarer ließ sich die Fähigkeit des Lactats, als Substrat zu dienen, in einer anderen Versuchsanordnung beweisen: das Speicheldrüsengewebe wurde zunächst durch zweimalige Dosen von Acetylcholin in substratfreier Lösung soweit erschöpft, daß es auf nochmalige Erregung mit Acetylcholin wahrscheinlich überhaupt nicht mehr reagieren würde. Dann wurde Lactat in der Endkonzentration von 100 mg% zugegeben, und nun die Acetylcholingabe wiederholt. Das Ergebnis war in allen Versuchen übereinstimmend eindeutig. *Vor* dem Lactatzusatz war meist nur noch eine Reaktion auslösbar, die zweite Acetylcholindosis blieb ohne Wirkung oder bewirkte nur einen geringen Atmungsanstieg. *Nach* Lactatzugabe löste dann dieselbe Dosis Acetylcholin wieder jene exzessiv hohe Atmungssteigerung ohne Säurebildung aus, wie sie schon in der vorigen Versuchsanordnung als typisch für die Erregung in lactathaltiger Lösung erschien (Abb. 5).

Diese enorme Atmungssteigerung dürfte mit der leichten Dehydrierbarkeit des Lactats zu erklären sein. Jedenfalls spricht sie im Sinne der oben aufgeworfenen Alternative dafür, daß das Lactat nicht erst zur Synthese von spaltbarem Kohlenhydrat benutzt wird, denn in diesem Falle wäre das Auftreten einer aeroben Säurebildung zu erwarten gewesen wie sie bei der gleichen Untersuchung in glukosehaltiger Lösung immer zu beobachten war. Es könnte jedoch auch so sein, daß wohl ein Teil des Lactats zur Synthese benutzt wurde, und daß nur deshalb keine Spaltprozesse bei der Erregung auftraten, weil das vorhandene Lactat eine eigene, hemmende Wirkung auf die Spaltprozesse hat. Diese Möglichkeit war umsomehr zu berücksichtigen, als bereits *Deuticke* (5) eine solche spaltungshemmende Wirkung des Lactats beobachtet hat. Dasselbe geht auch aus Untersuchungen von *Meyerhof* und *Lohmann* (6) hervor, die eine Hemmung der Glykolyse durch Lactat an verschiedenen Geweben bei Benutzung der *Warburg*schen Methode fanden.

Um die Frage zu klären, ob Lactat die Spaltung von vorhandenem Kohlenhydrat hemmt, nahm ich Versuche in der Weise vor, daß ich neben dem Lactat noch Glukose als *spaltbares* Kohlenhydrat zugab; denn, wie oben erwähnt, tritt bei Erregung in glukosehaltiger Lösung sonst stets eine Säurebildung auf. Die Ergebnisse dieser Versuche waren ebenfalls recht eindeutig. Wenn neben den 200 mg% Glukose, der für die „Glykolyse" optimalen Konzentration, noch 100 mg% Lactat anwesend waren, trat nach Acetylcholinzusatz nur eine Atmungssteigerung und *keine Säurebildung* auf. Die An-

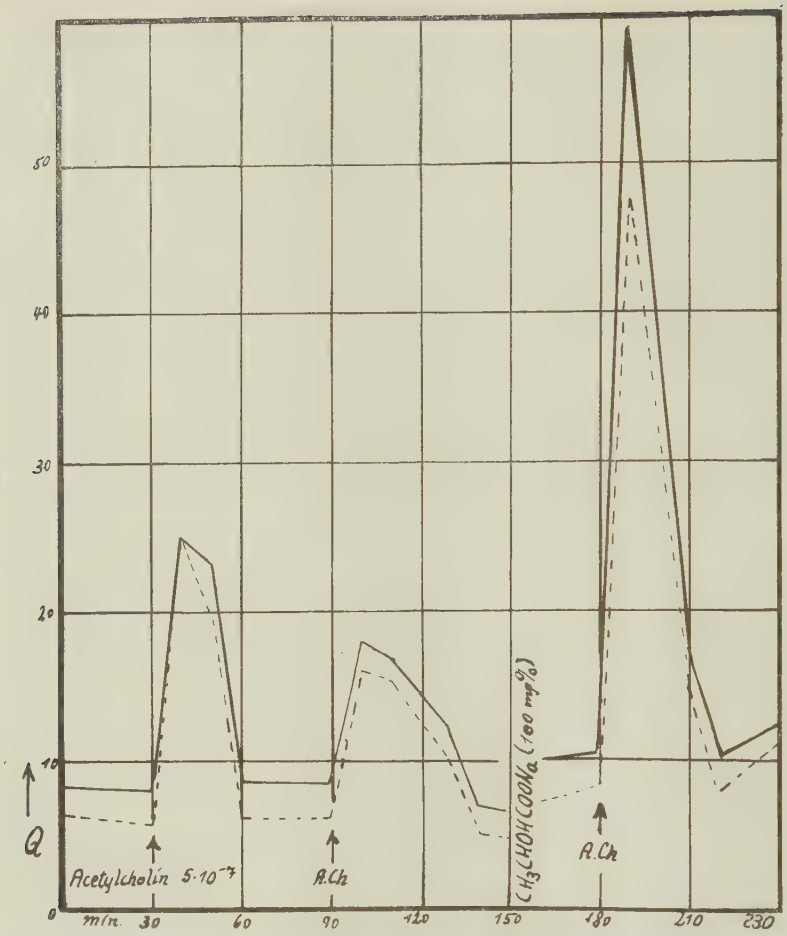

Abb. 5 (Bezeichnuug wie Abb. 1) Ringer-Lockelösnng ohne Substrat. Die erste Acetylcholingabe bewirkt eine kräftige Atmungssteigerung, die zweite eine wesentlich geringere. Nach Zugabe von 100 mg% Lactat löst Acetylcholin eine exzessiv hohe Atmungssteigerung ohne Säurebildung aus. (vergl. Abb. 4)

wesenheit des Lactats hat also anscheinend die Säurebildung verhindert. Den gleichen Versuch habe ich in einer andern Anordnung wiederholt. Das Ergebnis geht aus Abb. 4 hervor. Das Speicheldrüsengewebe wurde zunächst in zuckerfreier, lactathaltiger Lösung untersucht. Auf zweimaligem Zusatz von Acetylcholin erfolgte jedesmal der charakteristische starke Atmungsanstieg. Wurde nun der Ringerlösung auch Glukose zugesetzt, so trat auf eine Acetylcholingabe ebenfalls keine Säurebildung auf, sondern nur eine Atmungssteigerung.

Diese hemmende Wirkung des Lactats auf die aerobe Säurebildung erscheint um so bemerkenswerter, als die dazu notwendige Konzentration von 100 mg% keineswegs unphysiologisch hoch ist, wurden doch in Organen, die sich in Funktion befanden, weit höhere Werte ermittelt. So fanden *Reiss, Druckrey* und *Fischl* (7) in den Uteri infantiler, mit Follikelhormon behandelter Tiere ein Ansteigen des Lactats von 93 mg% auf 438 mg%. In der erregten Speicheldrüse fanden *Deutsch* und *Raper* (4) (umgerechnet) 70 bis 90 mg% mehr als in der ruhenden Drüse. Es muß deshalb in Erwägung gezogen werden, daß das bei der Erregung entstandene Lactat auch in vivo eine spaltungshemmende Wirkung entfaltet und damit — da es selbst Spaltprodukt ist — eine regulierende Funktion im Stoffwechsel des Gewebes ausüben kann.

Diese Annahme wurde weiter gesichert durch quantitative Versuche, in denen ich jene Lactatkonzentration ermittelte, die gerade ausreicht, das Auftreten einer aeroben Säurebildung zu unterdrücken. Es wurde deshalb eine Reihe von Versuchen angesetzt, in denen zuckerhaltige Ringerlösungen mit wechselnden Lactatkonzentrationen zur Anwendung kamen. Hierbei zeigte sich, daß bei Lactatkonzentrationen von 60 mg% und mehr trotz Vorhandensein von Glukose in optimaler Konzentration keine Glykolyse im Erregungsstoffwechsel mehr auftrat. Bei Lactatkonzentrationen von 40 mg% und weniger kam es dagegen zur aeroben Säurebildung.

Diese Hemmung der Milchsäurebildung durch zugesetztes Lactat bei konstantem pH ist nach dem Massenwirkungsgesetz zu erwarten. Es erscheint aber von Interesse, daß sie gerade im physiologischen Bereich aktuell wird; denn die physiologische Lactatkonzentration im Blut von etwa 10 mg%, der die Lactatkonzentration im ruhenden Gewebe entsprechen dürfte, erwies sich in meinen Versuchen als nicht ausreichend, die Säurebildung zu hemmen, wohl aber Konzentrationen, wie sie in arbeitenden und übrigens auch in geschädigten Geweben vorkommen.

Das auch die Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration (1) die Glykolyse ähnlich hemmen muß, wie eine Zunahme der Lactatkonzentration, versteht sich von selbst. So hat z. B. *Reiss* (8) für den Stoffwechel wachsender Gewebe dargelegt, daß auf diesem Wege eine Selbststeuerung glykolytischer Prozesse stattfindet. Meine Versuche zeigen, daß auch über die Wirkung der [H·] hinaus, der Säurerest Lactat physiologisch wichtige Wirkungen auf den Stoffwechsel ausübt.

6.

In den geschilderten Versuchen, in denen ich den Einfluß von Lactat auf die Ausnützung der Glukose beim Erregungsstoffwechsel untersuchte, ergab sich ein weiterer Befund, der mir bemerkenswert erscheint, da er stets reproduzierbar war. Während in lactathaltiger Lösung auf Acetylcholin eine exzessiv hohe Atmungssteigerung eintrat, löste die gleiche Dosis Acetylcholin bei gleichzeitiger Anwesenheit von Glukose einen weit geringeren Atmungs-

anstieg aus, der nur so hoch war, wie ich ihn auch sonst in zuckerhaltiger Lösung fand. Die Anwesenheit von Glukose scheint also den besonders hohen Anstieg der Oxydationen in lactathaltiger Lösung zu hemmen.

Eine solche „dämpfende" Wirkung der Glukose geht auch aus den eingangs (s. Abb. 1) beschriebenen Versuchen hervor. In ihnen ließ sich zeigen, daß die Höhe der Atmungssteigerung bei der Erregung in zuckerhaltiger Ringerlösung bei *80* mg% Glukosegehalt deutlich größer ist, als bei einem Glukosegehalt von 200 mg%. Diese Versuchsergebnisse entsprechen den Befunden von *Brock, Druckrey* und *Herken* (3), die nachweisen konnten, daß der „Grundstoffwechsel" im zuckerfreien Milieu zunächst um 100% höher liegt als im zuckerhaltigen, und daß nach Zuckerzusatz ein Absinken auf normale Werte eintritt. Die genannten Autoren erklären diese Befunde durch die „abdichtende" Wirkung der Glukose auf die Zellgrenzflächen.

Von besonderer Bedeutung erschienen mir an dieser Stelle die Beobachtungen von *Sperber* und *Runnström* (9), die in Versuchen an Hefezellen in Substrat*gemischen* zeigten, daß Glukose andere Substrate (z B. Brenztraubensäure oder Alkohol) zu verdrängen vermag. Bei Gegenwart von Glukose und einem zweiten Substrat wird also zuerst Glukose verbraucht. Falls die von *Sperber* und *Runnström* erhobenen Befunde auch für Lactat gelten, wäre erklärt, daß bei gleichzeitigem Vorhandensein von Glukose neben Lactat nicht mehr jene auffallend hohen Atmungssteigerungen bei der Erregung auftraten, wie sie für die nur Lactat enthaltende Ringerlösung beschrieben wurden, sondern solche von „normalen" Ausmaß. Der Erregungsstoffwechsel verhält sich im Substratgemisch: Lactat und Glukose also so, als ob Glukose als alleiniges Substrat vorhanden wäre. In dieser Hinsicht ist die gleichzeitige Anwesenheit von Lactat ohne Wirkung auf die Oxydation der Glukose.

Wohl aber vermag Lactat, wie wir gesehen haben, die Ausnutzung der Glukose zu beeinflussen, denn Lactat kann die Glukose*spaltung* im Erregungsstoffwechsel unterdrücken. Da andererseits Glukose die exzessive Atmungssteigerung in lactathaltiger Lösung hemmt, liegen offenkundig interessante Wechselwirkungen zwischen beiden Substraten vor, denen möglicherweise auch eine physiologische und zwar regulierende Bedeutung zukommt.

7.

Außer dem Lactat sind als oxydable aber nicht mehr spaltbare Substrate vor allem noch Pyruvat und Succinat in Betracht zu ziehen. Bei der Prüfung der Frage, ob Pyruvat als Substrat verwendet werden kann, wurde wieder so vorgegangen, daß nach zweimaliger Auslösung eines Erregungsstoffwechsels in substratfreier Lösung und damit eintretender Erschöpfung des zelleigenen Substrates, Pyruvat hinzugefügt wurde. Erneute Acetylcholingabe, die sonst keinen oder einen nur geringen Atmungsanstieg bewirken würde, führte nun zur Auslösung eines starken Atmungsanstieges ohne Säurebildung (Abb. 6).

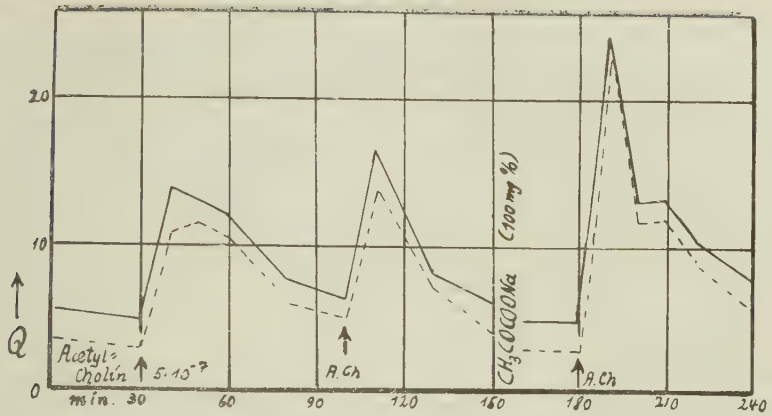

Abb. 6 (Bezeichnung wie Abb. 1.) In substratfreier Ringer-Lockelösung löst die Zugabe von Acetylcholin nur geringfügige Atmungssteigerungen aus, nach Zugabe von Pyruvat dagegen einen kräftigen Anstieg.

Aus diesem stets reproduzierbaren Versuchsergebnis geht hervor, das Pyruvat vom Speicheldrüsengewebe als Substrat für den Erregungsstoffwechsel ver wendet werden kann.

Dies Ergebnis wird durch weitere Versuche gestützt, in denen ich in glokosefreier aber pyruvathaltiger Ringerlösung wiederholt Acetylcholin auf das Gewebe einwirken ließ (Abb. 7). Selbst viermalige Wiederholung der Acetylcholindosis löste jedesmal eine kräftige Atmungssteigerung aus, es tritt in pyruvathaltiger Lösung also keine Erschöpfung ein.

Wenn damit gezeigt ist, daß das Pyruvat als Substrat verwendet werden kann, so ist weiter die Frage zu klären, ob das Pyruvat dabei erst zur Glykogensynthese herangezogen wird oder als solches einer Oxydation unterliegt. Die Beobachtung, daß in pyruvathaltiger Lösung auf Acetylcholinzugabe nur eine Atmungssteigerung ohne aerobe Säurebildung auftritt, schließt eine vorherige Glykogensynthese aus dem Pyruvat noch nicht aus. Es bestände vielmehr die Möglichkeit, daß zwar Glykogen aus Pyruvat gebildet wurde, daß aber das noch vorhandene Pyruvat hemmend auf die Glykogenspaltung wirkt, ähnlich wie es beim Lactat gezeigt werden konnte. Das ist aber offenbar nicht der Fall, denn wie aus Abb. 7 hervorgeht, ist Pyruvat nicht imstande, die aerobe Säurebildung aus zugesetzter Glukose bei der Erregung zu unterdrücken. Diese Versuche wurden ganz analog den in Abb. 4 wiedergegebenen Versuchen mit Lactat durchgeführt. Einer pyruvathaltigen Ringerlösung setzte ich die für die Glykolyse optimale Konzentration von 200 mg % Glukose zu und löste dann durch Acetylcholin einen Erregungsstoffwechsel aus. Schon bei Zugabe der Glukose trat eine aerobe Säurebildung auf, die nach dem Acetylcholinzusatz noch weiter anstieg. Brenztraubensäure vermag also die Säurebildung nicht zu hemmen und verhält sich demnach trotz der engen chemischen Verwandtschaft zur Milchsäure

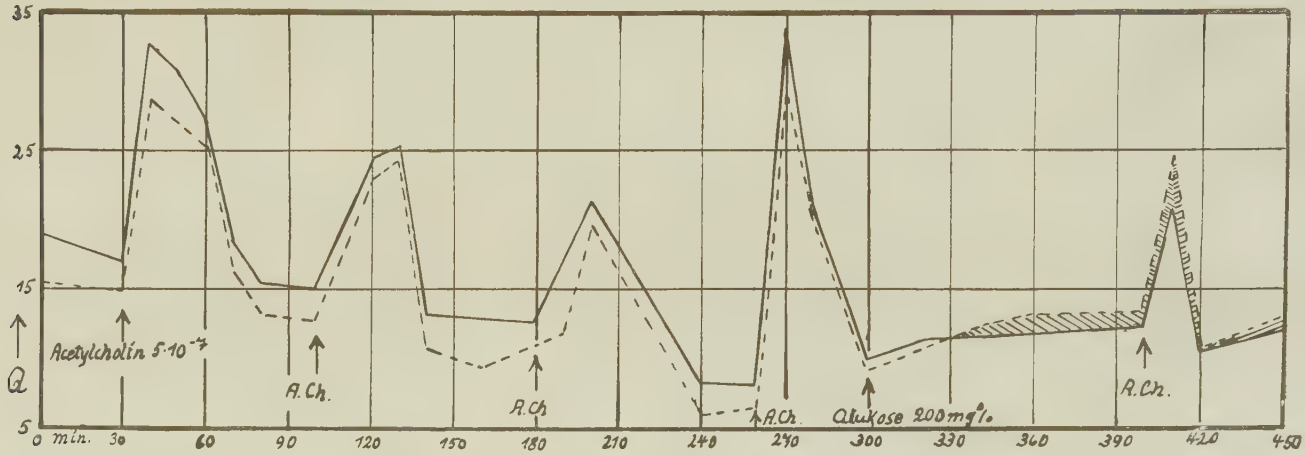

Abb. 7 (Bezeichnung wie Abb. 1) Ringer-Lockelösung ohne Glukose mit 100% Brenztraubensäure. Wiederholter Zusatz von Acetylcholin löst jedesmal einen deutlichen Atmungsanstieg aus. Nach Zusatz von Glukose tritt eine aerobe Säurebildung auf. Eine folgende Acetylcholindosis bewirkt neben der Atmungssteigerung eine Zunahme der aeroben Säurebildung.

anders als diese. Die besondere Wirkung der Milchsäure mag mit ihrer leichten Dehydrierbarkeit zusammenhängen, denn hierin unterscheidet sie sich von der Brenztraubensäure am stärksten. Ferner ist nach den Befunden von *Sperber* und *Runnström* (9) über die Verdrängung anderer Substrate durch Glukose daran zu denken, daß das Pyruvat durch Glukose so vollständig verdrängt wird, daß der Stoffwechsel in einer Lösung, die neben Pyruvat noch Glukose enthält, so verläuft, als ob allein Glukose als Substrat vorhanden wäre.

8.

Als letztes Substrat untersuchte ich Succinat. Auch hier wurde so vorgegangen, daß zunächst das Speicheldrüsengewebe in glukosefreier Ringerlösung durch mehrmalige Acetylcholinerregungen an Substrat erschöpft wurde. Nach Zugabe von Succinat (in der üblichen Konzentration von 100 mg%) bewirkte dann eine Acetylcholingabe einen deutlichen Atmungsanstieg ohne aerobe Säurebildung, in derselben Weise wie in pyruvathaltiger Lösung. In weiteren Versuchen (Abb. 8) konnte in succinathaltiger Lösung ebenfalls durch wiederholte Acetylcholingaben stets erneut ein Atmungsanstieg ausgelöst werden, der jedoch bemerkenswert schwächer war als z. B. in lactat- oder sogar pyruvathaltiger Lösung. Wurde als spaltbares Substrat noch Glukose hinzugegeben, so trat auf Acetylcholin ein stärkerer Atmungsanstieg

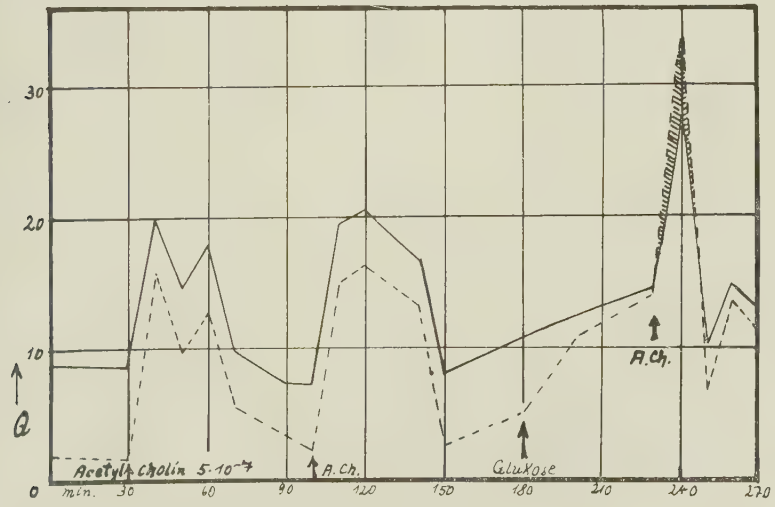

Abb. 8 (Bezeichnung wie Abb. 1.) Ringer-Lockelösung mit 100 mg% Succinat als Substrat. Der repiratorische Quotient ist niedrig. Zweimaliger Zusatz von Acetylcholin bewirkt jedesmal deutlichen Atmungsanstieg. Nach Zugabe von Glukose tritt auf eine Acetylcholingabe außer der Atmungssteigerung eine aerobe Säurebildung auf.

mit aerober Säurebildung auf. Das Succinat zeigt in dieser Hinsicht ein dem Pyruvat entsprechendes Verhalten: Es kann als Substrat für den Erregungsstoffwechsel dienen, wird aber wahrscheinlich ohne vorherige Glykogensynthese oxydiert und hemmt die „Glykolyse" nicht. Daß die aerobe Säurebildung durch Succinat nicht gehemmt wird, überrascht deshalb, weil die Bernsteinsäure hinsichtlich der Dehydrierbarkeit eher mit der Milchsäure als der Brenztraubensäure zu vergleichen ist Demgemäß lag auch der respiratorische Quotient bei den Versuchen in succinathaltiger Ringerlösung ebenso niedrig wie in lactathaltiger Lösung. Die Angreifbarkeit des Succinats ist jedoch offenkundig geringer als die des Lactats, wie aus der relativ geringen Höhe des Atmungsanstieges bei der Erregung hervorgeht. Bernsteinsäure ist demnach kein besonders gut geeignetes Substrat für den Erregungsstoffwechsel, wird also doch nicht so leicht dehydriert, wie z. B. Milchsäure. So mag es auch zu verstehen sein, daß Bernsteinsäure die Zuckerspaltung beim Erregungsstoffwechsel nicht hemmt.

Zusammenfassung.

Es wird die Wirkung von Acetylcholin auf dem Gasstoffwechsel von Gewebsschnitten der Speicheldrüse („Erregungsstoffwechsel") in *Ringer-Locke* Lösung mit verschiedenen Substraten untersucht.

1. Bei der „Erregung" durch Acetylcholin tritt in zuckerhaltiger Lösung eine Atmungssteigerung um 100 — 300 % und eine aerobe Säurebildung auf. Die Größe dieser Säurebildung („Glykolyse") geht der in der Lösung vorhandenen Glukosekonzentration parallel. Sie erreicht ihr Optimum bei einer Glukosekonzentration von 200 mg %. Das Minimum wurde bei 20 mg % gefunden. Für die Atmungssteigerung nach Acetylcholingabe lag die optimale Glukosekonzentration dagegen bei 80 mg %, die minimale bei 20 mg %.

2. Das Speicheldrüsengewebe besitzt nur geringe Substratreserven, die für die Bestreitung des „Erregungsstoffwechsels" geeignet sind. Diese Reserven sind in substratfreier Ringerlösung meist schon nach ein- bis zweimaliger „Erregung" erschöpft. Im Ruhestoffwechsel wurden diese Reserven dagegen auch in 10 Stunden nicht verbraucht, sondern blieben für den Erregungsstoffwechsel reserviert. Da außerdem der Ruhestoffwechsel, eines durch mehrfache Erregung in substratfreier Lösung erschöpften Gewebes das damit gegen weitere Acetylcholingaben refraktär ist, durchaus auf normaler Höhe verläuft, meist sogar erhöht ist, ist anzunehmen, daß das Gewebe für den Erregungsstoffwechsel ein anderes Substrat gebraucht, als für den Ruhestoffwechsel.

3. Lactat, Pyruvat und Succinat können als Substrat für den Erregungsstoffwechsel des Speicheldrüsengewebes dienen. Durch Acetylcholinzusatz kann bei Anwesenheit dieser Substrate mehrfach ein Erregungsstoffwechsel ausgelöst werden. Dabei erfolgt jedoch nur eine Atmungssteigerung und keine aerobe Säurebildung.

4. Lactat hemmt bei konstanter Wasserstoffionenkonzentration die beim Erregungsstoffwechsel auftretende aerobe Säurebildung aus der der Ringerlösung beigefügten Glukose. Pyruvat und Succinat zeigen diese Eigenschaft nicht.

5. In lactathaltiger Ringerlösung steigt die Atmuug nach Acetylcholinzugabe auf exzessiv hohe Werte. Dieser Anstieg wird durch gleichzeitige Anwesenheit von Glukose gedämpft. Glukose beeinflußt also die Ausnützung des Lactats.

Literatur.

1) *O. Warburg:* Ueber den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin 1926. *Derselbe, Kubowitz* und *Christian:* Bioch. Z. **242** 170 (1931).

2) *N. Brock, H. Druckrey* und *H. Herken:* Arch. f. exp. Path. und Pharm. **191** 687 (1939)
Bioch. Z. **302** 393 (1939)

3) *N. Brock, H. Druckrey* und *H. Herken:* Bioch. Z. **300** 1 (1938)

4) *W. Deutsch* und *H. S. Raper:* J. of Phys. **92** 439 (1938)

5) *H. J. Deuticke:* Hoppe Seyler's Z. **141** 196 (1925)

6) *O. Meyerhof* und *K. Lohmann:* Bioch. Z. **171** 381 (1926)

7) *M. Reiss, H. Druckrey* und *F. Fischl.:* Endokrinologie **10** 241 (1932)

8) *M. Reiss:* Med. Klinik 1426 (1931)

9) *E. Sperber* und *J. Runnström:* Bioch. Z. **300** 373 (1939)

Lebenslauf.

Am 10. Mai 1915 wurde ich zu Berlin-Friedenau als Sohn des Oberingenieurs Rudolf Loch und seiner Ehefrau Antonie, geb. Siegl, geboren. Von Ostern 1924 bis zur Reifeprüfung im Frühjahr 1933 besuchte ich die Rheingau-Oberrealschule in Berlin-Friedenau. Im Sommersemester 1933 begann ich mit dem Medizinstudium an der Berliner Universität. Im Sommer 1935 bestand ich dort das Physikum. Nach 6 klinischen Semestern legte ich an der gleichen Universität die medizinische Staatsprüfung ab (14. Dez. 1938).

Während der ersten vier Monate meiner Medizinal-Praktikantenzeit war ich an der 2. Med. Klinik der Charite (Direktor Prof. Dr. G. v. Bergmann) tätig. Seit dem 2. Mai ds. J. arbeite ich am Pharmakologischen Institut der Universität Berlin, das von Herrn Prof. Dr. W. Heubner geleitet wird. Hier beschäftigte ich mich vor allem mit den in der vorliegenden Arbeit zur Darstellung gebrachten Untersuchungen.

Meine Bestallung als Arzt erhielt ich zum 1. September 1939.

Ich erfülle die angenehme Pflicht, Herrn Doz. Dr. H. Druckrey für die Ueberlassung des Themas sowie außerdem Herrn Dr. Brock für seine Unterstützung bei der Durchführung der Versuche zu danken.